

Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) no município de São Bonifácio - SC e seus efeitos sobre a composição química do leite.

Cristian Damaceno Back^{1*}, Daniele Cristina da Silva Kazama²,

^{1*} Acadêmico do curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

² Professor Adjunto, Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

* Autor correspondente - E-mail: cristiandback@gmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de leite instável não ácido (LINA) no município de São Bonifácio (Santa Catarina), e analisar sua influência sobre a composição química, a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT), quando comparado ao leite normal. O experimento foi realizado durante os meses de maio e junho de 2017. Foram coletadas amostras de leite em tanque de expansão ou em tarro imerso e resfriado em água de 14 Unidades de Produção Leiteira (UPL), sendo realizadas três coletas por UPL com intervalos de 15 dias. Das amostras coletadas foram determinados os valores de gordura, proteína, lactose, caseína, sólidos totais, extrato seco desengordurado (ESD), CCS e CBT. A estabilidade do leite foi avaliada pelo teste do álcool, com concentração variando de 68 a 76% (v/v) em intervalos de 2% da solução alcoólica. A acidez titulável também foi mensurada, obtendo-se a acidez em graus Dornic (°D), sendo as amostras classificadas quanto a sua acidez em: ácidas (> 18 °D), alcalinas (<14 °D) e normais (de 14 a 18° D). As amostras que apresentaram acidez normal e positividade ao teste do álcool com concentração mínima de 72% foram consideradas como leite LINA. Já as amostras com acidez normal e negativas em solução alcoólica foram caracterizadas como leite normal. Os resultados foram submetidos à análise de variância, para comparar as médias dos componentes do leite LINA e do leite normal. A incidência de LINA foi 46,2% ao álcool a 72% (v/v), não havendo diferenças na composição química, na CCS e na CBT entre o leite normal e o leite LINA. Ao longo dos dias ocorreu um aumento na intensidade de precipitação

das amostras, evidenciando que a ocorrência de LINA pode ter efeitos sazonais. Medidas de controle ao LINA são fundamentais para evitar prejuízos causados pelo descarte do leite tanto para a indústria quanto para os produtores.

Palavras-chave: caseína, estabilidade, teste do álcool, floculação.

Occurrence of unstable non-acid milk (LINA) in the city of São Bonifácio - SC and its effects on the chemical composition of milk.

Abstract

The objective of this study was to confirm the occurrence of unstable non-acid milk (LINA) in the city of São Bonifácio, Santa Catarina. LINA's chemical composition, somatic cell count (CCS), and total bacterial count were analyzed and compared to normal milk. The experiment was carried out during the months of May and June of 2017. Milk samples were collected in expansion tank or in a water-cooled and immersed jar of 14 Dairy Production Units (UPL). 15 days. From the collected samples the values of fat, protein, lactose, casein, total solids, dry extract (ESD), CCS and CBT were determined. An alcohol test evaluated the stability of casein, which concentration ranged from 68 to 76% (v / v) at intervals of 2% alcoholic solution. The titratable acidity was also measured, obtaining acidity in degrees Dornic (°D), and the samples were classified according to their acidity in: acidic (> 18 °D), alkaline (<14 °D) and normal (from 14 to 18 °D). Samples with normal acidity and positive alcohol test (72% minimum degree) were considered LINA. Samples with normal acidity and negative precipitation in alcoholic solution were characterized as normal milk. The results were submitted to analysis of variance aiming to compare the components of LINA milk and normal milk. The incidence of LINA was 46.2% (alcohol at 72% v/v), and there was no difference between normal milk and LINA milk in terms of chemical composition, CCS, and CBT. However, the intensity of precipitation increased as days went by, showing that seasonal variation may impact LINA's incidence. Preventive measures to control LINA's occurrence are fundamental to avoid damages caused by discarded milk to the industry and to the producers.

Key words: casein, stability, alcohol test, flocculation.

Introdução

O leite e seus derivados fazem parte da alimentação humana em muitas partes do mundo, sendo ele um alimento natural e completo já que possui gorduras, proteínas, glicídios, minerais e vitaminas em sua composição (LOPES, 2008). Segundo dados da Embrapa (2015), o leite está entre os seis produtos mais importantes do setor agropecuário brasileiro, com produção de 35.174.271 mil litros em 2014. A região sul do país foi responsável por 34% da produção nacional no mesmo ano. Desses, mais de 2.983.250 mil litros correspondiam à produção do estado de Santa Catarina.

O setor agropecuário está cada vez mais competitivo e a cadeia produtiva do leite exige cada vez mais qualidade em seus produtos. No entanto, a qualidade do produto final depende primordialmente da qualidade da matéria-prima.

Visando melhorar a qualidade do leite produzido nacionalmente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) lançou a Instrução Normativa 62, que estabelece os padrões de qualidade para recebimento do leite nas indústrias. Segundo a IN 62, o leite fresco deve apresentar teores maiores ou iguais a 3% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado, além de acidez titulável entre 14 e 18° Dornic e ser estável em solução alcoólica com, no mínimo, 72°GL de etanol (BRASIL, 2011).

Para melhorar a qualidade sanitária do produto final e aumentar o tempo de prateleira, a indústria de produtos lácteos utiliza o tratamento térmico como forma de eliminar microrganismos patogênicos e deteriorantes. No entanto, a redução da estabilidade térmica do leite cru é um problema enfrentado frequentemente pela indústria, principalmente em produtos submetidos a tratamentos térmicos severos (LOPES, 2008).

A estabilidade térmica do leite pode determinar seu aceite ou sua rejeição por parte da indústria, fazendo-se necessária a adoção de testes rápidos e de baixo custo que podem ser realizados no momento do carregamento nas unidades de produção leiteira e/ou nas plataformas de recebimento das indústrias.

O álcool é utilizado há muitos anos pela indústria como forma de avaliar a acidez, deste modo, o teste do álcool é o mais empregado para avaliar a estabilidade do leite (WERNCKE, 2012). O leite que apresenta formação de grumos em solução alcoólica é caracterizado como instável. A instabilidade ao teste do álcool pode ocorrer por causa da redução do pH, ocasionada pela fermentação de bactérias lácteas e pela formação de ácido láctico (ZANELA, 2006).

No entanto, transtornos fisiológicos, metabólicos e nutricionais, com implicações nos

mecanismos de síntese e de secreção do leite podem ocasionar o aparecimento do chamado leite instável não ácido, também conhecido como LINA (LOPES, 2008). O LINA caracteriza-se pela perda da estabilidade das moléculas de caseína sem, no entanto, haver uma acidez titulável elevada (ZANELA, 2009).

A caseína é a proteína encontrada em maior quantidade no leite. Sua estabilidade está relacionada à sua propriedade de repulsão. Fatores como o pH e o desequilíbrio iônico podem afetar a estabilidade da caseína, diminuindo a força de repulsão e ocasionando a formação de grumos pela união das micelas de caseína (MACHADO, 2010).

Na indústria, o LINA gera prejuízos com o descarte e aumenta o custo de limpeza dos equipamentos, causado pela deposição anormal de proteínas desnaturadas nos trocadores de calor. Além disso, interfere na qualidade de seus derivados, podendo ocorrer alterações, como aumento no tempo de coagulação, menor rendimento em queijos, alta retenção de água no coágulo e perda de proteínas no soro (WERNCKE, 2012).

Quanto à influência do LINA sobre a composição físico-química, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total, ainda existem divergências entre autores. Oliveira et al. (2011) analisaram amostras de leite da região oeste do Paraná e não encontraram diferença de composição e de propriedades físico-químicas entre o leite normal e o LINA. No entanto, Lopes (2008), ao analisar 451 amostras na região de Casa Branca, no estado de São Paulo, constatou incrementos nos níveis de gordura, lactose e CCS, e decréscimo no teor de proteína no leite instável não ácido. Marques et al. (2007) chegaram a resultados semelhantes na região de Pelotas, no Rio Grande do Sul. Lá, eles observaram o aumento dos níveis de gordura e CCS e a diminuição de proteína e lactose no LINA, quando comparado ao leite normal.

Apesar de indicado para consumo, a coagulação do leite no teste do álcool causa a rejeição do leite por parte da indústria, causando prejuízos ao produtor (ZANELA, 2006). Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de leite instável não ácido (LINA) no município de São Bonifácio (Santa Catarina), e analisar sua influência sobre a composição química, a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT), quando comparado ao leite normal.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no município de São Bonifácio (Santa Catarina) durante os meses de maio e junho de 2017. Foram coletadas amostras diretamente em tanque de

expansão resfriado ou em tarro de leite mantido em resfriamento sob imersão em água de 14 Unidades de Produção Leiteira (UPL) da região central do município. Realizaram-se três coletas por UPL em intervalos de 15 dias, totalizando 42 amostras coletadas durante este estudo. A fim de representar a realidade do município, as UPLs avaliadas apresentam diferentes sistemas de produção, ou seja, a ordenha é feita de maneira mecânica ou manual e o rebanho possui entre 3 e 32 animais em lactação.

Antes da coleta, fez-se a homogeneização do leite, acionando-se a agitação do tanque de expansão por cinco minutos. No caso de refrigeradores de imersão, a agitação foi realizada utilizando um agitador manual para homogeneizar os tarros por tempo superior a dez segundos (DIAS e ANTES, 2012).

Uma alíquota de leite foi coletada em frascos-padrão (um frasco para composição e CCS e um frasco para CBT), contendo uma pastilha do conservante bronopol para o frasco de composição e CCS e uma pastilha de azidiol para o frasco de CBT. As amostras foram identificadas com o número do produtor e acondicionadas em caixa isotérmica com gelo. Ao final de cada coleta, os frascos foram mantidos sob refrigeração, até serem enviados ao laboratório de análise de leite da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), para determinação dos valores de gordura, proteína, lactose, caseína, sólidos totais, extrato seco desengordurado (ESD), CCS e CBT. A análise de composição foi obtida pelo método de espectrofotometria por radiação infravermelha, enquanto as análises de CCS e CBT foram submetidas ao sistema de citometria de fluxo (BRASIL, 2011).

A acidez titulável também foi mensurada, obtendo-se a acidez em graus Dornic (°D). Para o teste de acidez, foram pipetados 10 mL de leite em erlenmeyer de 25 mL. Adicionaram-se quatro gotas de solução alcoólica de fenolftaleína como indicador e, em seguida, titulados em solução de hidróxido de sódio (NaOH) N/9 até a obtenção da coloração rósea. O volume consumido de solução de NaOH corresponde ao grau de acidez (LUTZ, 2008). As amostras foram classificadas quanto à sua acidez em: ácidas ($> 18^{\circ}\text{D}$), alcalinas ($< 14^{\circ}\text{D}$) e normais (de 14 a 18°D). A estabilidade da caseína não foi avaliada nas amostras ácidas e alcalinas. Um total de 32 amostras foram avaliadas quanto a estabilidade térmica da caseína.

A estabilidade do leite foi analisada pelo teste do álcool nas concentrações 68, 70, 72, 74 e 76% (v/v) de etanol. Com o auxílio de um alcoômetro a concentração alcoólica foi aferida a cada 15 dias. Foram pipetados 2 mL de leite e 2 mL da solução alcoólica em placas

de petri, procedendo uma leve homogeneização. A leitura foi realizada imediatamente após a adição do álcool, pela visualização da formação de precipitação de caseína nas placas (LUTZ, 2008). De acordo com a intensidade da precipitação, as amostras foram classificadas em: ausente, leve, moderada e forte (Figura 1).

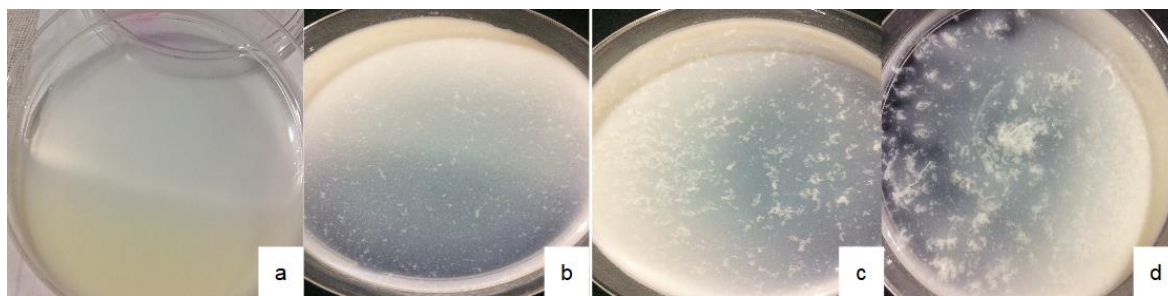


Figura 1 – Classes de LINA de acordo com a intensidade de floculação da caseína em amostras submetidas à solução alcoólica. Ausente - sem precipitação (a); Leve - precipitação fraca (b); Moderada - precipitação média (c); Forte - precipitação intensa (d). Fonte: Arquivo pessoal.

As amostras que apresentaram acidez normal e positividade ao teste do álcool com concentração igual ou superior a 72% de etanol foram consideradas LINA. Amostras com acidez normal e negativas à precipitação em solução alcoólica foram caracterizadas como leite normal.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o procedimento PROC MIXED do pacote estatístico SAS versão 9.0 (SAS_INSTITUTE, 1999), para comparar as médias das variáveis avaliadas das amostras de LINA e leite estável. Os dados foram testados para distribuição normal, pelo teste de Shapiro-Wilk, sendo CCS e CBT transformados respectivamente para função quadrática e logarítmica, pelo fato de não apresentarem distribuição normal. Adotou-se como nível de significância a probabilidade de $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

Das amostras avaliadas quanto a sua acidez titulável (Figura 2), 7,1% são alcalinas (< 14 °D), 16,7% são ácidas (> 18 °D) e 76,2% apresentaram acidez normal (entre 14 e 18 °D), considerando que 42,9% foram positivas (LINA) e 33,3% negativas (leite normal) ao teste do álcool com no mínimo 72% de etanol (v/v).

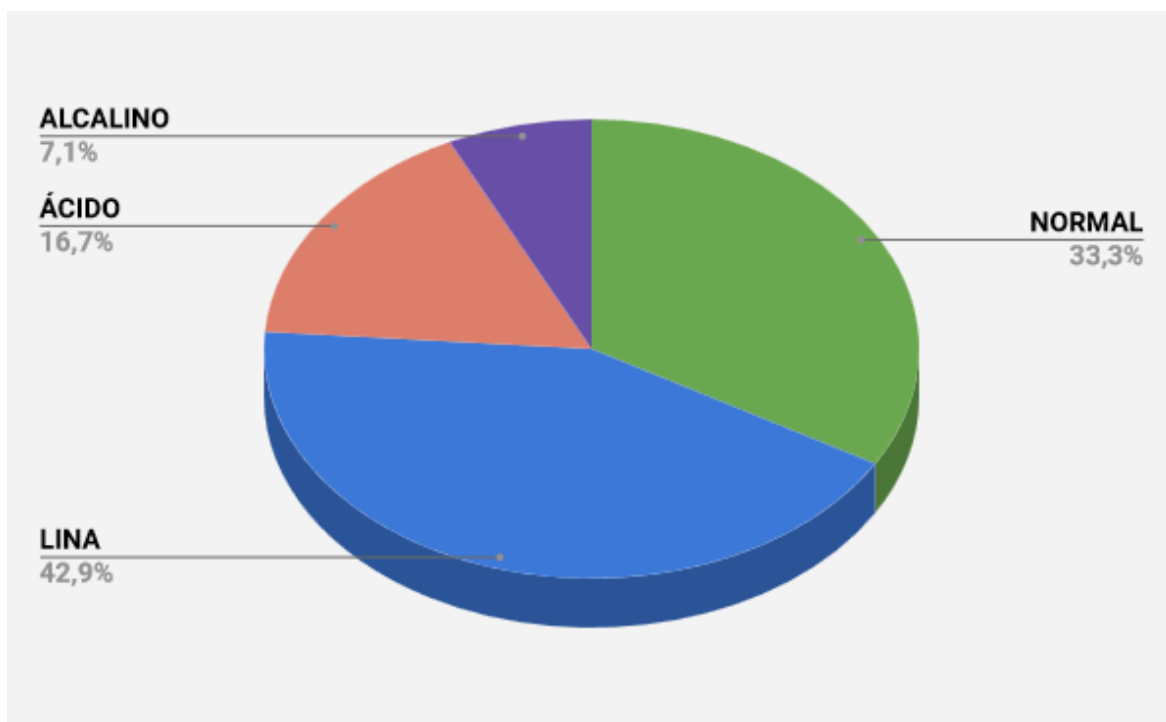


Figura 2 - Acidez em amostras de leite coletadas no município de São Bonifácio (Santa Catarina), no período de maio a junho de 2017. Normal (14 a 18 °D e estável), LINA (14 a 18 °D e instável), ácido (>18 °D) e alcalino (<14 °D). Total de 42 amostras.

Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira et al. (2007), que constataram a ocorrência de 49,25% de LINA durante o outono em Santa Vitória do Palmar, RS. Marx et al. (2011) ao verificar a ocorrência de LINA na região oeste do Paraná, obteve 33% das amostras instáveis em solução alcoólica.

Azevedo (2014), analisando amostras de leite cru na região da Grande Florianópolis no período de abril a junho de 2014, observou a ocorrência de 1% de amostras alcalinas, 19% de amostras ácidas e 70% das amostras com acidez normal (16% leite normal e 54% LINA).

Sendo o LINA relacionado a situações de desbalanceamento nutricional ou mesmo subnutrição, diferenças na ocorrência de LINA podem estar relacionadas ao nível de especialização dos estabelecimentos leiteiros, sendo que, estabelecimentos mais especializados atendem mais facilmente às exigências nutricionais de seus rebanhos e consequentemente, apresentam menor ocorrência de LINA (FISCHER et al., 2012).

Embora neste trabalho não tenha sido avaliado a estabilidade de amostras ácidas e alcalinas, é sabido que estas características podem afetar a estabilidade térmica das proteínas presentes.

Ao analisar apenas as amostras com acidez normal (Figura 3), observa-se a ocorrência de 56,3% de leite instável (LINA), enquanto os outros 43,8% das amostras mostraram-se estáveis ao teste do álcool (leite normal).

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Marques et al. (2007), no qual encontraram a ocorrência de 58% de LINA em 13.587 amostras analisadas entre abril de 2002 a setembro de 2003 na região de Pelotas, RS.

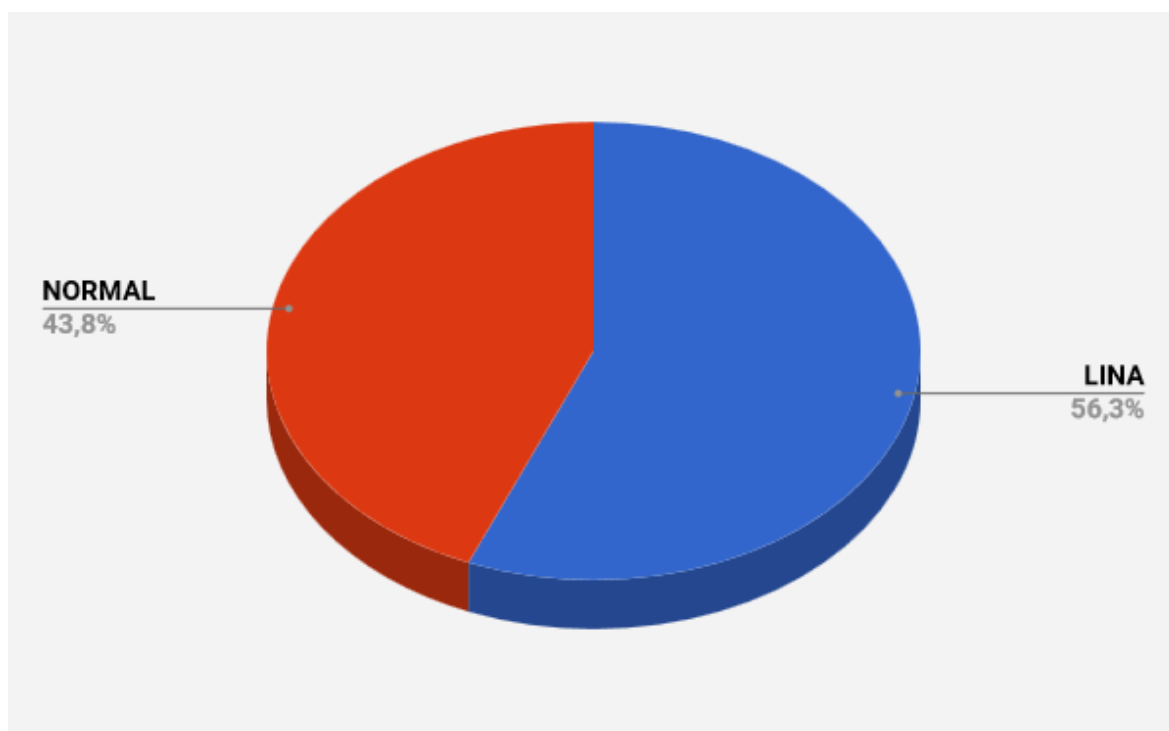


Figura 3 - Incidência de amostras de leite não ácido e não alcalino, positivas (LINA) e negativas (Normal) ao teste de álcool a 72% (v/v) em 32 amostras de leite coletadas no município de São Bonifácio (Santa Catarina), no período de maio a junho de 2017.

Segundo Werncke et al. (2012) a ocorrência de LINA tem causas multifatoriais que estão relacionadas à composição racial do rebanho, ao manejo alimentar dos animais, ao estágio de lactação e a condição nutricional dos animais.

Embora o manejo nutricional dos rebanhos não tenha sido avaliado, acredita-se que a utilização de uma dieta desbalanceada, associada à baixa qualidade das pastagens, poderia ter influenciado na ocorrência de LINA, pois estes distúrbios na dieta comprometem o metabolismo ruminal, ocasionando alterações na estabilidade das caseínas (OLIVEIRA et al., 2011).

Lopes (2008), afirma que o desequilíbrio de minerais, principalmente Cálcio e Fósforo, e a relação Ca/P é outro fator associado à estabilidade das micelas de caseína. As alterações nas proporções destes minerais no leite modificam o pH e aumentam os níveis de cálcio iônico, diminuindo consideravelmente a capacidade da caseína em manter sua estrutura.

A intensificação na formação de grumos das amostras de leite foi observada quando submetidas ao teste do álcool em diferentes graduações alcoólicas (Figura 4).

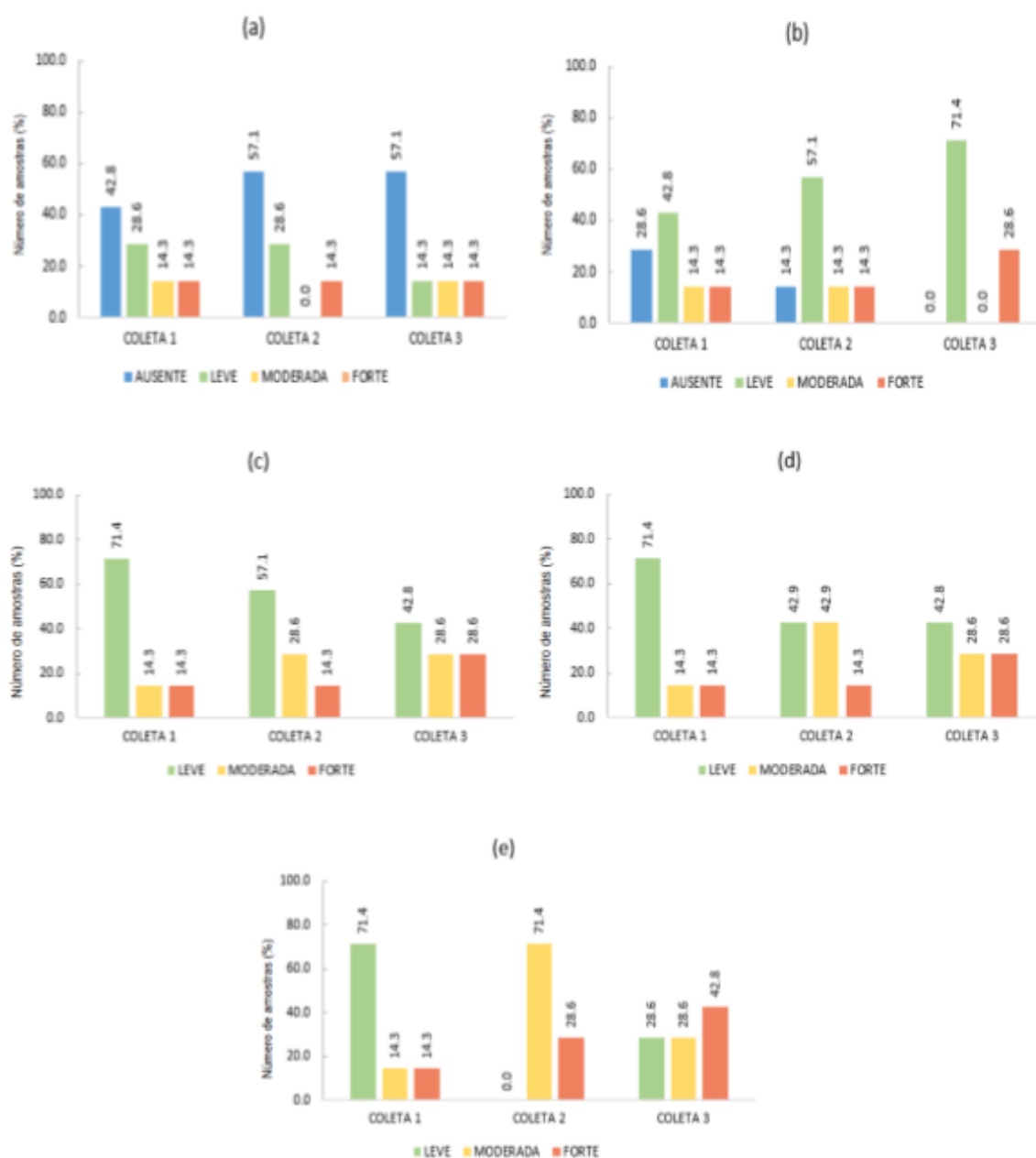


Figura 4 - Intensidade de floculação de micelas de caseína em placa de petri, de 32 amostras de leite coletas no município de São Bonifácio (Santa Catarina), no período de maio a junho

de 2017, e submetidas à prova do álcool nas concentrações 68% (a), 70% (b), 72% (c), 74% (d) e 76% (e).

Ao longo das coletas, observa-se para a concentração 72% de álcool, uma redução no número de amostras compreendidas na classe leve de coagulação. Em consequência disso, ocorre o aumento de amostras com coagulação compreendidas nas classes moderada e forte.

O aumento de desnaturação das proteínas pode estar relacionado ao efeito sazonal de produção de forrageiras, uma vez que o período de coletas do presente trabalho coincide com a diminuição no desenvolvimento e perda de qualidade das pastagens na região, principalmente devido à redução da temperatura. Segundo Marx et al.(2011) e Battaglini et al.(2013) a ocorrência de LINA é maior durante o outono e inverno. Para estes autores, no outono, não é incomum os casos de carência nutricional e até mesmo a desnutrição nos rebanhos, isso devido a menor produtividade dos pastos de verão aliada ao fato dos pastos de inverno ainda se encontrarem em desenvolvimento.

Nota-se também, que a intensidade de precipitação das amostras tem relação com a graduação do álcool utilizada. Para a concentração de 68% de álcool houve ausência de precipitação em 42,8; 57,1 e 57,1% das amostras, nas coletas 1, 2 e 3 respectivamente, enquanto que, para as concentrações acima de 72% de etanol não se evidencia em nenhuma das coletas a presença de amostras com ausência de coagulação.

A IN 62 de 29 de dezembro de 2011, estabelece a concentração mínima de álcool para realização do teste de avaliação da estabilidade térmica do leite, que é de 72 °GL de etanol. No entanto, não estabelece os padrões máximos da solução alcoólica, ficando a critério da indústria a escolha da graduação desejada. Isso favorece o aparecimento de resultados falso positivo para LINA, aumentando assim a quantidade de leite descartado.

Quanto à composição química, CBT e CCS, não houve diferenças significativas entre LINA e o leite estável (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química e microbiológicas de amostras com acidez normal e positivas (LINA) ou negativas (Normal) ao teste de álcool a 72% (v/v) no município de São Bonifácio (Santa Catarina), no período de maio a junho de 2017.

Componentes	N	Média	DP	LINA	Normal	P
Gordura (%)	32	4,73	0,72	4,65	4,83	0,702

Proteína (%)	32	3,61	0,28	3,57	3,65	0,441
Lactose (%)	32	4,25	0,21	4,27	4,23	0,589
Caseína (%)	32	2,83	0,23	2,80	2,88	0,382
Sólidos Totais (%)	32	13,52	0,98	13,42	13,64	0,549
ESD (%)	32	8,79	0,40	8,77	8,81	0,805
CCS (x1000 células/mL)	32	469,13	339,85	493,56	437,71	0,402
CBT (x1000 UFC/mL)	31	308,84	373,70	183,35	461,21	0,286

*Não significativo ao nível de probabilidade de $P < 0,05$. ESD = extrato seco desengordurado, CCS = contagem de células somática, CBT = contagem bacteriana total, UFC = unidades formadoras de colônia.

Resultados similares foram obtidos por Werncke et al.(2012), já que não constatarem diferenças entre a composição do leite normal e do leite LINA, de amostras coletadas na região do Vale do Braço do Norte (Santa Catarina).

Por outro lado, Battaglini et al. (2013) encontraram um decréscimo nas concentrações de gordura, proteína bruta, lactose e CCS do LINA quando comparado ao leite normal. Oliveira et al.(2011) constatarem maiores níveis de gordura e CCS, porém, com diminuição nos teores de proteína e lactose. Já para Zanela et al.(2009), os teores de proteína bruta, lactose, sólidos totais e sólidos desengordurados foram mais baixos no LINA.

É importante ressaltar que o LINA é decorrente de causas multifatoriais, que interagem entre si de maneiras diferentes, e consequentemente, influenciam de maneira diferente a composição do leite.

Diversos fatores podem afetar a composição química do leite, entre os quais se destaca a alimentação, características genéticas, estágio de lactação e interação do animal aos fatores ambientais.

Pelos resultados deste trabalho pode-se afirmar que o LINA, sendo um leite não ácido, não mamítico, e com composição química similar ao leite normal, é apto ao consumo. Entretanto, medidas de prevenção e controle devem ser adotadas na região estudada como forma de evitar o descarte deste leite.

Conclusões

Em amostras com acidez titulável dentro dos padrões estabelecidos como leite normal, a incidência de LINA foi de 56,3%, sendo que, o LINA não apresentou alteração de composição, CCS e CBT em comparação ao leite normal. Houve um aumento na incidência

de desestabilização ao teste do álcool no decorrer das coletas, indicando um possível efeito da estação do ano sobre a ocorrência de LINA. Considerando que o leite LINA normalmente é descartado pela indústria, medidas importantes devem ser tomadas para evitar seu aparecimento, sendo que o mesmo corresponde a mais metade do leite produzido (56,3%).

Referências

ABREU, Alexandre Susenbach de. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey**. 2008. 106 p Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2008.

AZEVEDO, Camila Souza de. **Ocorrência de leite instável não ácido (lina) na região da Grande Florianópolis - SC**. 2014. 28 f. TCC (Graduação) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

BATTAGLINI, A.P.P. et al. Caracterização Físico-química e Microbiológica do Leite Bovino Instável Não Ácido em Função das Estações do Ano. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Londrina, v. 35, n. 1, p.26-32, jan. 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Rafael_Fagnani/publication/269698904_Microbiology_and_physical_chemical_characterization_of_unstable_non-acid_milk_according_to_the_seasons/links/549301ab0cf286fe3121f564.pdf>. Acesso em: junho de 2017.

BRASIL. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Instrução normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. . In: BRASIL (Ed.). **Diário Oficial da União**. Brasília, v.1. 2011. p.24.

DIAS, J. A.; ANTES, F. G. **Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibiótico**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2012. 15 p.

EMBRAPA. **Leite e Derivados**. 6. ed. Juiz de Fora: Embrapa, 2015. 19 p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355117/1528925/Indicadores+-+Leite+e+Derivados+-+Outubro+2015/5b950cc9-be92-49f7-8331-441692a422bf>>. Acesso em: 29 maio 2017.

FISCHER, V. et al., . Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista**

Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, vol. 13, n. 3, p. 838-849, jul./set. 2012.

LOPES, Ludmila Camargo. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2008. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-29042008-103024/en.php>>. Acesso em: maio de 2017.

LUTZ, Instituto Adolfo. Leites e derivados. In: LUTZ, Instituto Adolfo. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Cap. 27, p. 1020. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: junho de 2017.

MACHADO, Sandro Charopen. **Fatores que afetam a estabilidade do leite bovino**. 2010. 201 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26095/000756935.pdf>>. Acesso em: junho de 2017.

MARQUES, L.T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas-RS, v.13, n.1, p.91-97, jan-mar, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Maira_Zanela/publication/28228062_Ocorrencia_do_leite_instavel_ao_alcool_76_e_nao_acido_lina_e_efeito_sobre_os_aspectos_fisico-quimicos_do_leite/links/00b7d534ede18e781e000000.pdf> Acesso em: junho de 2017

MARX, I.G. et al. Ocorrência de Leite Instável não Ácido na Região Oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, Guarapuava-PR, v. 13, n. 1, p.101-112, jan. 2011. Disponível em: <<http://revistas.unicentro.br/index.php/RECEN/article/view/1256>>. Acesso em: maio de 2017.

OLIVEIRA, C.A.F. et al. Composição e características físico-químicas do leite instável não

ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 2, p.508-515, abr. 2011. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/rbspa/article/view/12777>> Acesso em: junho de 2017.

OLIVEIRA, D.S. et al. Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Pelotas, v. 14, n. 2, p.101-104, ago, 2007. Disponível em: <<http://www.uff.br/rbcv/ojs/index.php/rbcv/article/view/426>>. Acesso em: junho de 2017.

SAS_INSTITUTE. **SAS/STAT User's Guide 9.0**. Cary-NC: SAS Institute. 1999

WERNCKE, Daíse et al. Ocorrência de Leite Instável Não Ácido (LINA) e sua relação com a composição do leite, Contagem Bacteriana Total e Contagem de Células Somáticas. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 5, 2012, Maringá. **Anais do V SUL LEITE**. Maringá: Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudo da Cadeia Produtiva do Leite, 2012. p. 1 – 3.

WERNCKE, Daíse. **Perfil das Propriedades e Ocorrência de Leite Instável Não Ácido na Região do Vale do Braço Do Norte, Sul do estado de Santa Catarina**. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages/SC, 2012.

ZANELA, M.B. et al. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p.835-840, maio 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v41n5/30605.pdf>>. Acesso em: 29 maio 2017.

ZANELA, M. B. et al. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 4, p. 1009-1013, maio 2009. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/77056/000725193.pdf>>. Acesso em: 29 maio 2017.